

**NASKAH PUBLIKASI**

**EFEK ANTIBAKTERI KOMBINASI INFUSA UMBI BAWANG DAYAK  
(*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Ex K. Heyne) DAN INFUSA  
DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida* L.) TERHADAP  
*Salmonella typhi* SECARA IN VITRO**



**APRINDO DONATUS**

**I11112055**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS TANJUNGPURA  
PONTIANAK  
2016**

**NASKAH PUBLIKASI**

**EFEK ANTIBAKTERI KOMBINASI INFUSA UMBI BAWANG DAYAK  
(*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Ex K. Heyne) DAN INFUSA  
DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida* L.) TERHADAP  
*Salmonella typhi* SECARA IN VITRO**



**APRINDO DONATUS**

**I11112055**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS TANJUNGPURA  
PONTIANAK  
2016**



**LEMBAR PENGESAHAN  
NASKAH PUBLIKASI**

**EFEK ANTIBAKTERI KOMBINASI INFUSA UMBI BAWANG DAYAK  
(*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Ex K. Heyne) DAN INFUSA  
DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida* L.) TERHADAP  
*Salmonella typhi* SECARA IN VITRO**

**TANGGUNG JAWAB YURIDIS MATERIAL PADA**

**APRINDO DONATUS  
I11112055**

**DISETUJUI OLEH**

**PEMBIMBING UTAMA**



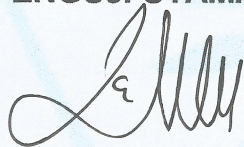
**Dra. Siti Khotimah, M.Si  
NIP. 196702021997022001**

**PEMBIMBING KEDUA**



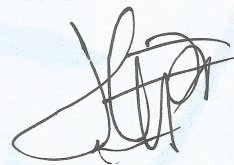
**dr. Sari Rahmayanti  
NIP. 198705082014042001**

**PENGUJI UTAMA**



**dr. Andriani, M. Biomed  
NIP. 198204172008122003**

**PENGUJI KEDUA**



**dr. Muhammad In'am Ilmiawan, M. Biomed  
NIP. 197910182006041002**

**MENGETAHUI,  
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS TANJUNGPURA**



**dr. Arif Wicaksono, M. Biomed  
NIP. 198310302008121002**



**EFEK ANTIBAKTERI KOMBINASI INFUSA UMBI BAWANG DAYAK  
(*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Ex K. Heyne) DAN INFUSA  
DAUN MANGGA BACANG (*Mangifera foetida* L.) TERHADAP  
*Salmonella typhi* SECARA IN VITRO**

**Aprindo Donatus<sup>1</sup>, Siti Khotimah<sup>2</sup>, Sari Rahmayanti<sup>3</sup>**

**Abstrak**

**Latar Belakang.** Demam tifoid merupakan penyakit endemik di Indonesia yang mudah menular dan dapat menimbulkan wabah. Masalah resistensi terhadap antibiotik pada penanganan demam tifoid semakin meningkat. Hal ini menimbulkan strain bakteri baru yang disebut MDR *Salmonella typhi*. Kalimantan Barat diketahui kaya akan tanaman yang berpotensi sebagai antibakteri, yaitu tanaman bawang dayak dan mangga bacang.

**Tujuan.** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antibakteri dari kombinasi infusa umbi bawang dayak dan infusa daun mangga bacang terhadap *Salmonella typhi* secara in vitro. **Metodologi.** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen murni in vitro dengan rancangan *posttest only control group design*. Metode uji antibakteri yang digunakan adalah metode uji sumur difusi. **Hasil.** Nilai rata-rata zona hambat pada uji antibakteri adalah 32,36 mm untuk kontrol positif, 0 mm untuk kontrol negatif, dan 0 mm untuk semua kelompok perlakuan. **Kesimpulan.** Kombinasi infusa umbi bawang dayak dan infusa daun mangga bacang tidak memiliki efek antibakteri terhadap *Salmonella typhi* secara in vitro.

**Kata Kunci:** Antibakteri, Bawang Dayak, Mangga Bacang, *Salmonella typhi*, Infusa.

- 
1. Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat.
  2. Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat.
  3. Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat.

**ANTIBACTERIAL EFFECT OF THE COMBINATION OF *Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Ex K. Heyne BULBUS INFUSION AND *Mangifera foetida* L. LEAFS INFUSION AGAINST *Salmonella typhi* IN VITRO**

**Aprindo Donatus<sup>1</sup>, Siti Khotimah<sup>2</sup>, Sari Rahmayanti<sup>3</sup>**

**Abstract**

**Background.** Typhoid fever is one an endemic disease in Indonesia which can easily spread and cause disease outbreaks/epidemic. The problem of resistance toward antibiotics on the handling of typhoid fever is getting increase. It causes new bacteria strain called MDR salmonella typhi. West Kalimantan is known for being rich of having lots of plants which are potential as antibacterial, *Eleutherine americana* (Aubl.) and *Mangifera foetida* L. **Objective.** This research aims to determine the antibacterial effect of the combination of *Eleutherine americana* (Aubl.) infusion and *Mangifera foetida* L infusion toward *Salmonella typhi* in vitro. **Method.** This research is a purely in vitro experimental research using posttest only control group design. The antibacterial test method used is diffusion (well) test method. **Result.** The average value of inhibition zone on antibacterial test is 32,36 mm for positive control, 0 mm for negative control, and 0 mm for all infusion groups. **Conclusion.** The combination of *Eleutherine americana* (Aubl.) infusion and *Mangifera foetida* L infusion does not have any antibacterial effect toward *Salmonella typhi* in vitro.

**Keywords:** Antibacterial, *Eleutherine americana* (Aubl.), *Mangifera foetida* L., *Salmonella typhi*, infuse.

1. Medical School, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura, Pontianak, West Borneo.
2. Biology Department, Math and Science Faculty, University of Tanjungpura, Pontianak, West Borneo.
3. Microbiology Department, Faculty of Medicine, University of Tanjungpura, Pontianak, West Borneo.

## LATAR BELAKANG

*Salmonella typhi* adalah bakteri penyebab demam tifoid.<sup>1</sup> Demam tifoid merupakan penyakit endemik di Indonesia. Penyakit ini mudah menular dan dapat menyerang banyak orang sehingga dapat menimbulkan wabah.<sup>2</sup> Demam tifoid sampai saat ini masih merupakan masalah kesehatan global, termasuk di Asia Tenggara seperti Indonesia, Malaysia, dan Thailand.<sup>1</sup>

Insidensi demam tifoid yang tergolong tinggi terjadi di wilayah Asia Tengah, Asia Selatan, Asia Tenggara, dan Afrika Selatan (Insidensi > 100 kasus per 100.000 populasi pertahun). Di Indonesia, insidensi demam tifoid banyak dijumpai pada populasi yang berusia 3-19 tahun. Ditjen Bina Upaya Kesehatan Masyarakat Departemen Kesehatan RI tahun 2010, melaporkan demam tifoid menempati urutan ke-3 dari 10 pola penyakit terbanyak pada pasien rawat inap di rumah sakit di Indonesia (41.081 kasus).<sup>2</sup> Menurut data Dinas Kesehatan Pontianak (2013) insidensi demam tifoid yang terjadi di kota Pontianak adalah 3.982 kasus (16,5%) dan menempati urutan ke-2 dari kelompok penyakit infeksi pada usus setelah diare.

Hingga pertengahan 1970-an kloramfenikol menjadi suatu antibiotik yang efektif dalam pengobatan demam tifoid, dan di negara-negara maju penggunaan antibiotik ini mengakibatkan penurunan angka kematian dari 10% menjadi <2%.<sup>3,4</sup> Dalam penelitian berbeda yang dilakukan oleh Jesudason, M. V. dan Butt, T., agen penyebab demam tifoid, yaitu *Salmonella typhi*, diketahui cepat mengalami resistensi terhadap antibiotik seperti ampisilin, kloramfenikol dan kotrimoksazol, dan juga obat-obatan yang sebelumnya berkhasiat seperti siprofloksasin.<sup>4,5,6</sup> Pada tahun 1989, telah dilaporkan sejumlah wabah yang disebabkan oleh bakteri strain *Salmonella typhi* yang resisten terhadap kloramfenikol, ampisilin, dan trimetoprim, serta terhadap streptomisin, sulfonamid, dan tetrasiklin di banyak negara terutama berkembang di Pakistan dan India, yang

kemudian strain tersebut disebut MDR (*multidrug-resistance*) *Salmonella typhi*.<sup>3</sup>

Obat herbal telah diterima secara luas di hampir seluruh negara di dunia. Indonesia kaya akan tumbuh-tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat berbasis alternatif atau obat herbal. Salah satu jenis tumbuhan yang memiliki potensi sebagai obat herbal adalah bawang dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Ex. K. Heyne).<sup>7,8,9</sup> Menurut laporan dari B.O.T. Ifesan dkk dalam *Journal of Food Science* (2009), umbi bawang dayak memiliki kandungan senyawa aktif yaitu antrakuinon, *bi-eleutherol*, dan *elecanacin*.<sup>7</sup> Antrakuinon yang terkandung dalam umbi bawang dayak merupakan golongan kuinon yang memiliki efek sebagai antimikroba, antifungal, antiviral, dan antiparasit.<sup>8,10</sup> Selain bawang dayak, jenis tumbuhan lain yang memiliki potensi sebagai obat herbal adalah mangga bacang (*Mangifera foetida* L.).<sup>11,12</sup> Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Anggi P. N. Pohan dkk (2013), diketahui bahwa salah satu kandungan metabolit sekunder dalam daun mangga bacang adalah mangiferin. Mangiferin memiliki efek sebagai antitumor, antibakterial, antioksidan, dan aktivasi makrofag. Telah diketahui pula bahwa kandungan mangiferin dalam mangga bacang merupakan terbesar diantara kultivar lainnya, yaitu sebesar 2,56%.<sup>11</sup>

## **ALAT DAN BAHAN**

### **Alat**

*Handscoon*, masker, aluminium foil, pisau, wadah plastik, blender, toples kaca, oven, inkubator, krusibel porselen, desikator, sendok tanduk, timbangan analitik, penangas air, kertas saring, corong, sendok stainless, *laminar air flow* (LAF) *cabinet*, *autoclave*, labu ukur, gelas ukur, erlenmeyer, gelas beker, tabung reaksi, batang pengaduk, *object glass*, *cover glass*, cawan petri, pipet tetes, penggaris, prevorator, jarum ose, lampu bunsen, dan mikroskop.

## **Bahan**

Umbi bawang dayak, daun mangga bacang, Siprofloksasin 30 ug/ disk, akuades, etanol 70 %, spirtus, pereaksi Mayer, perekasi Wagner, pereaksi Dragondorf, magnesium (Mg), asam klorida (HCl) pekat, asam klorida (HCl) 2 N, besi (III) klorida (FeCl<sub>3</sub>) 1%, asam asetat (CH<sub>3</sub>COOH) glasial, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, kloroform (CH<sub>3</sub>Cl), NaCl 0,9%, *Salmonella-Shigella Agar* (SSA), *Mueller-Hinton Agar* (MHA), standar Mc. Farland no. 0,5, karbol fuksin, lugol, gentian violet, etanol 96%, minyak emersi.

## **Bakteri Uji**

Bakteri uji dalam penelitian ini berasal dari Unit Laboratorium Klinik Yogyakarta, yaitu genus *Salmonella* dan spesies *Salmonella typhi*.

## **METODE PENELITIAN**

### **Pengolahan Sampel dan Pengambilan Sampel**

Sampel tanaman yaitu, umbi bawang dayak diperoleh dari perkebunan masyarakat yang terletak di RT 1/ RW 9 Jalan Objek Patok 35, Desa Limbung, Kecamatan Sungai Raya, Kabupaten Kubu Raya. Sedangkan daun mangga bacang diperoleh dari pohon mangga rumahan di Jalan Karna Sosial No. 10, Kecamatan Pontianak Selatan, Kota Pontianak, Kalimantan Barat.

Kedua jenis tanaman sampel dibersihkan dengan air mengalir dan dipisahkan dari kotoran, serta bagian yang rusak dan tidak digunakan. Kemudian tanaman dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu tidak lebih dari 60° C. Setelah kering, pisahkan bagian tanaman yang rusak atau gosong. Umbi bawang dayak dirajang kasar dan daun mangga bacang diblender kasar. Masing-masing simplisia yang telah jadi disimpan dalam toples dan pada tempat yang tidak terkena cahaya matahari langsung.



### **Penentuan Susut Pengerinan**

Masing-masing simplisia dilakukan pemeriksaan kadar air dengan menggunakan metode gravimetrik guna menilai kualitas simplisia yang diperoleh.

### **Pembuatan Kombinasi Infusa Umbi Bawang Dayak dan Daun Mangga Bacang**

Kombinasi infusa diawali dengan membuat masing-masing infusa terlebih dahulu. Pembuatan infusa umbi bawang dayak dan infusa daun mangga bacang menggunakan metode infundasi dengan pelarut air (100 gram bahan dalam 100 ml akuades mewakili kadar infusa konsentrasi 100%) yang dipanaskan selama 15 menit terhitung dari suhu telah mencapai 90° C. Infusa yang telah jadi disaring dengan menggunakan kertas saring hingga diperoleh volume 100 ml, apabila kurang tambahkan akuades panas ke simplisia yang disaring.

Infusa umbi bawang dayak dan infusa daun mangga bacang masing-masing dipekatkan hingga volume 50 ml dengan menguapkan di atas penangas air pada suhu tidak lebih dari 60° C. Infusa kemudian dicampurkan dan dihomogenkan. Hasil kombinasi infusa kemudian disebut larutan uji (LU) dan dibuat sebanyak enam konsentrasi yang berbeda, yaitu LU 1 sampai LU 6, dimana LU 1 terdiri dari infusa umbi bawang dayak konsentrasi 100% dan infusa daun mangga bacang 100%. Kelompok selanjutnya dibuat dengan nilai konsentrasi setengah dari kelompok sebelumnya.

### **Skrining Fitokimia**

Skrining fitokimia dilakukan pada kelompok LU 1. Metabolit sekunder yang diperiksa adalah alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin, steroid-triterpenoid, dan kuinon.

### **Karakterisasi Bakteri Uji**

Karakterisasi dilakukan dengan tujuan untuk memastikan strain yang digunakan merupakan *Salmonella typhi*. Uji biokimia yang dilakukan adalah pewarnaan gram, uji TSIA, uji SC, dan penanaman pada SSA.

### **Pembuatan Media Uji**

*Salmonella-Shigella Agar* (SSA) dibuat dengan cara melarutkan medium selektif agar sebanyak 12,6 gram dengan 200 ml akuades. Larutan tersebut diaduk hingga homogen kemudian larutan tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi sebanyak 15 ml. Seluruh media yang digunakan selama pembuatan agar sebelumnya telah disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf pada tekanan 1,5 atm dan suhu 121° C selama 15 menit. Setelah inkubasi, koloni yang terbentuk akan berwarna putih jernih dengan inti berwarna hitam.<sup>13</sup>

*Muller-Hinton Agar* (MHA) merupakan campuran dari *beef extract*, *casein hirolisate*, *starch*, dan agar yang membentuk berat total 11,4 g kemudian dilarutkan dengan akuades 300 ml, selanjutnya dipanaskan dan diaduk sampai larut. Media agar juga perlu disterilkan di autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121° C. Media agar dimasukkan ke dalam cawan petri masing-masing sebanyak 15 ml kemudian didinginkan hingga memadat pada suhu kamar.<sup>14</sup>

### **Pembuatan Suspensi Bakteri Uji**

Suspensi bakteri dibuat dengan melarutkan koloni *Salmonella typhi* ke dalam tabung yang berisi 1 ml NaCl 0,9 %. Campuran dibuat hingga kekeruhannya sama dengan suspensi standar 0,5 McFarland, yang dianggap mengandung konsentrasi bakteri sebanyak 10<sup>8</sup> CFU/ml.<sup>15</sup>

### **Pemilihan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif**

Kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin 30 ug/ disk, sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah akuades steril.

### Uji Aktivitas Antibakteri

Metode pengujian aktivitas antibakteri yang digunakan adalah uji sumur difusi. MHA dalam cawan petri yang telah siap di buat sumuran dengan menggunakan pipet pasteur. Jarak sumuran yang dibuat berkisar 2 cm dari tepi cawan dan 3 cm antar jarak sumuran. Selanjutnya meneteskan 15 ul dari masing-masing kelompok LU 1, LU 2, LU 3, LU 4, LU 5, dan LU 6 ke dalam sumur. Kemudian diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Efek antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona hambat disekitar lubang. Diameter zona hambat diukur dan dibandingkan dengan senyawa standar antibakteri siprofloksasin sebagai kontrol positif dan pertumbuhan *Salmonella typhi* dengan menggunakan akuades sebagai kontrol negatif.<sup>13</sup>

Zona hambat yang terbentuk akan diinterpretasikan berdasarkan kriteria interpretasi CLSI (lihat tabel 1.1).

Tabel 1.1 Standar Interpretasi Batas Minimum Zona Hambat Antimikroba<sup>16</sup>

Diameter Zona Hambat	Interpretasi
$\geq 20$	Sensitif
15-19	Intermediet
$\leq 14$	Resisten

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penentuan Susut Pengeringan

Total susut pengeringan rerata untuk simplisia umbi bawang dayak adalah 4,67 % dan simplisia daun mangga bacang adalah 6,33 %. Perhitungan susut pengeringan memiliki tujuan untuk menjaga kualitas simplisia. Hal ini sesuai dengan ketentuan Farmakope Herbal Indonesia, bahwa syarat mutu suatu simplisia adalah nilai susut pengeringan tidak melebihi 10%. Susut pengeringan menandakan kestabilan simplisia. Kestabilan simplisia juga menentukan lamanya simplisia dapat disimpan dan digunakan kembali dengan perubahan sifat fisika dan kimia seminimal mungkin.<sup>17</sup>

### **Skrining Fitokimia Kandungan Metabolit Sekunder Larutan Uji**

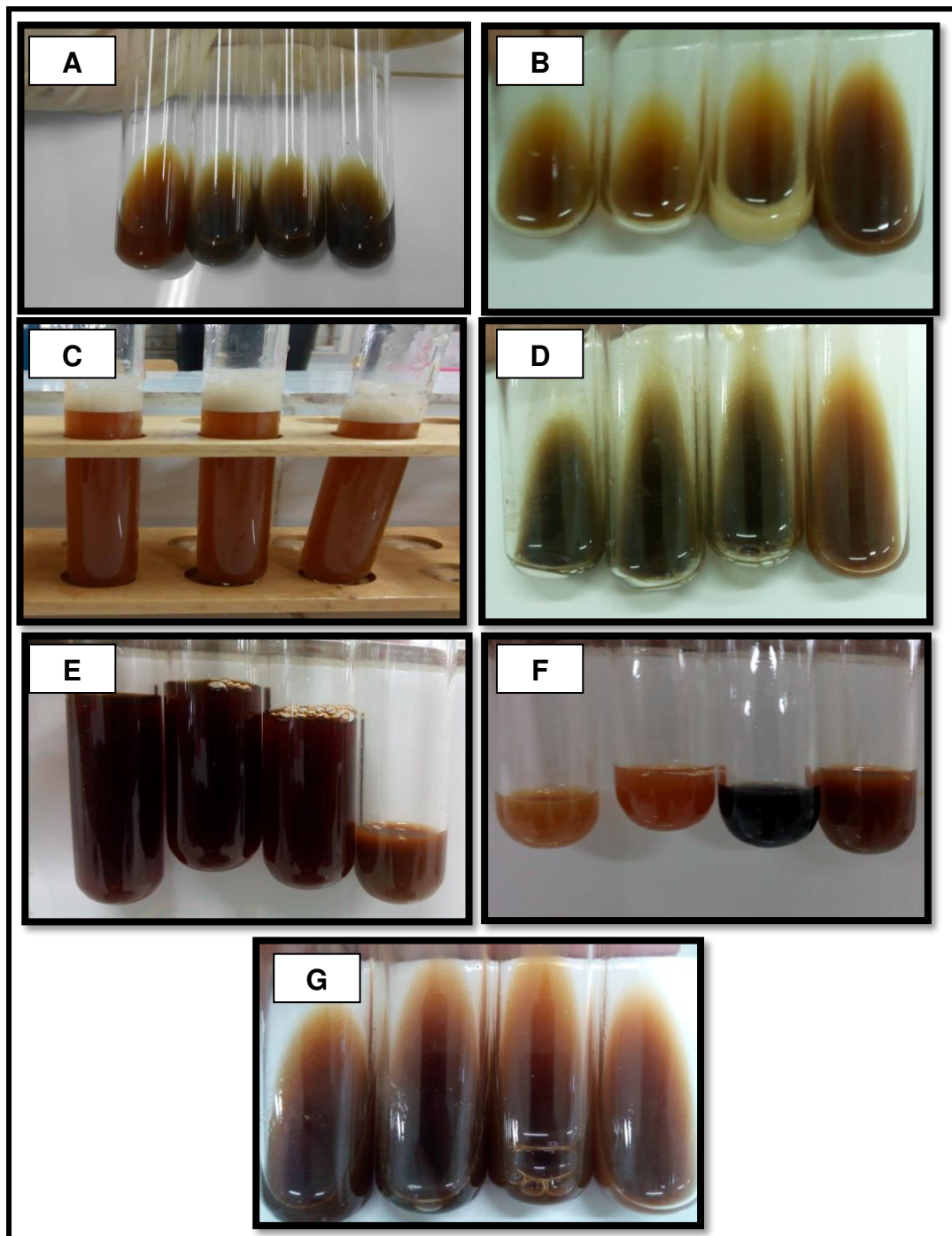
Hasil skrining fitokimia dari larutan uji yang dilakukan ditunjukkan oleh tabel 1.2 berikut ini.

Tabel 1.2 Hasil Skrining Fitokimia Kombinasi Infusa Umbi Bawang Dayak dan Infusa Daun Mangga Bacang

No	Kandungan Metabolit Sekunder	Hasil	Keterangan
1	Alkaloid	Negatif	Tidak terbentuk endapan
2	Fenol	Positif	Larutan berubah warna menjadi hijau
3	Flavonoid	Positif	Larutan berubah warna menjadi kuning
4	Saponin	Positif	Terbentuk buih/ busa
5	Tanin	Positif	Larutan berubah warna menjadi kuning
6	Steroid-Triterpenoid	Negatif	Tidak terjadi perubahan warna pada larutan
7	Kuinon	Positif	Terbentuk lapisan air berwarna merah

Skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat di dalam larutan uji merupakan pengujian secara kualitatif, artinya positif apabila terdapat senyawa metabolit sekunder dan negatif jika tidak ditemukan. Hasil positif dinyatakan apabila terjadi reaksi kimia yang mengakibatkan perubahan pada larutan uji yang sesuai dengan indikator nilai positif. Dalam penelitian ini, tidak dinilai jumlah atau banyaknya kandungan metabolit sekunder yang diperoleh. Dari hasil skrining diketahui bahwa, larutan uji yang digunakan mengandung fenol, flavonoid, saponin, tanin, dan kuinon. Sedangkan alkaloid dan steroid-triterpenoid

tidak ditemukan. Gambar 1.1 berikut menunjukkan perubahan yang terjadi pada larutan uji.



Gambar 1.1 Hasil Skrining Fitokimia pada Larutan Uji: A) Hasil Uji Fenol; B) Hasil Uji Flavonoid; C) Hasil Uji Saponin; D) Hasil Uji Tanin; E) Hasil Uji Kuinon; F) Hasil Uji Alkaloid; G) Hasil Uji Steroid-Triterpenoid

Fenol merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik. Pengujian dilakukan dengan menambahkan  $\text{FeCl}_3$  1% pada larutan uji. Penambahan  $\text{FeCl}_3$  1% akan mengoksidasi gugus hidroksil yang ada sehingga terjadi perubahan warna menjadi merah atau hijau kehitaman.<sup>18</sup>

Flavonoid merupakan senyawa yang memiliki gugus benzen yang menempel pada cincin aromatik. Pengujian dilakukan dengan menambahkan HCl dan serbuk magnesim pada larutan uji. Tujuan dari penambahan HCl dan serbuk magnesium pada larutan uji adalah untuk mereduksi gugus benzen pada struktur flavonoid sehingga terbentuk kompleks yang menimbulkan warna kuning, jingga, hingga merah.<sup>19</sup>

Saponin memiliki gugus yang bersifat polar dan nonpolar. Pengujian dilakukan dengan menambahkan akuades pada larutan uji, kemudian dikocok dan timbul busa yang bertahan selama 10 menit. Menurut Robinson, senyawa yang mengandung gugus polar dan nonpolar sekaligus bersifat aktif permukaan. Sehingga, apabila dikocok dengan air, akan terbentuk misel atau busa.<sup>20</sup>

Tanin merupakan senyawa yang memiliki gugus hidroksil pada cincin aromatiknya. Uji dilakukan dengan menambahkan  $\text{FeCl}_3$  5% pada larutan uji. Pemberian  $\text{FeCl}_3$  5% akan mengoksidasi gugus hidroksil yang ada dan terbentuk kompleks berwarna hijau.<sup>18</sup>

Kuinon merupakan senyawa yang mengandung fenolik pada salah satu gugusnya. Pengujian dilakukan dengan menambahkan akuades dan dipanaskan, yang kemudian ditambahkan NaOH 15%. Ketika penambahan NaOH, maka gugus fenolik ini akan tereduksi, sehingga terbentuk kompleks warna merah pada larutan uji.<sup>21</sup>

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik yang paling banyak ditemukan di alam. Pengujian dilakukan dengan menggunakan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Diketahui bahwa hasil uji pada larutan



uji adalah negatif, karena tidak terbentuk endapan. Alkaloid dapat dibagi menjadi dua, yaitu dalam bentuk garam dan dalam bentuk bebas. Alkaloid dalam bentuk bebas umum dijumpai pada tanaman. Alkaloid dapat diperoleh dari tanaman melalui ekstraksi dengan menggunakan pelarut semi polar dan polar. Namun, alkaloid dalam bentuk bebas hanya dapat diperoleh dengan menggunakan pelarut semi polar.<sup>22</sup> Oleh karena itu, diduga bahwa kandungan alkaloid dalam umbi bawang dayak dan daun mangga bacang merupakan alkaloid dalam bentuk bebas, sehingga tidak dapat ditarik oleh pelarut polar seperti air.

Uji steroid-triterpenoid dilakukan dengan menambahkan asam asetat glasial dan asam sulfat. Hasil menunjukkan negatif dengan tidak terjadi perubahan warna pada larutan uji. Harbone (1987) menyatakan bahwa steroid-triterpenoid hanya dapat ditarik oleh pelarut yang bersifat semi polar dan tidak bisa ditarik oleh pelarut polar, seperti air. Hal ini disebabkan oleh prekursor dari pembentukan steroid-triterpenoid adalah kolesterol yang bersifat nonpolar, sehingga hanya dapat ditarik oleh pelarut organik (nonpolar).<sup>23</sup>

### **Karakterisasi Pertumbuhan *Salmonella typhi* pada Medium Uji Biokimia**

Uji biokimia yang dilakukan dalam penelitian yaitu pewarnaan gram, pertumbuhan pada SSA, Uji SIM, Uji SC, dan Uji TSIA. Ciri pertumbuhan *Salmonella typhi* pada setiap uji biokimia yang dilakukan ditunjukkan oleh tabel 1.3.

*Salmonella typhi* merupakan bakteri gram negatif berbentuk batang. Bakteri ini memiliki dua lapis membran sel yang tersusun oleh lipid bilayer. Morfologi membran sel tersebut mengakibatkan bakteri tidak mampu mempertahankan zat warna utama, yaitu *crystal violet* pada waktu pewarnaan. Sehingga bakteri akan mempertahankan zat warna kedua, yaitu safranin setelah dicuci dengan alkohol.<sup>24</sup>

Tabel 1.3 Hasil Identifikasi *Salmonella typhi* yang Digunakan sebagai Bakteri Uji dalam Penelitian Aktivitas Antibakteri Kombinasi Infusa Umbi Bawang Dayak dan Infusa Daun Mangga Bacang

No	Uji Biokimia	Hasil	Keterangan
1	Pewarnaan Gram	Koloni berwarna merah, berbentuk batang	Menyerap zat warna kedua yaitu safranin
2	SS Agar	Koloni bulat tidak berwarna dengan inti hitam	<i>Salmonella</i> sp.
3	SIM	Koloni menyebar dan berwarna hitam. Pada permukaan tidak terbentuk cincin berwarna merah	Sulfur = (+) Indol = (-) Motilitas = (+)
4	Simon Sitrat	Berwarna hijau (-)	Hasil positif ditunjukkan perubahan warna hijau menjadi biru
5	TSIA	Lereng = Merah/ <i>Alkaly</i> Dasar = Kuning/ <i>Acid</i> H <sub>2</sub> S = (+) Gas = (-)	Bakteri mampu memfermentasi glukosa dan menghasilkan asam, namun tidak dapat memfermentasi laktosa dan sukrosa

Pembiakan *Salmonella typhi* dalam SS agar menunjukkan pertumbuhan koloni bakteri berbentuk bulat, tidak berwarna, dan inti berwarna hitam. SS agar mengandung *bile salt*, *brilliant green*, sitrat, dan *thiosulfate* yang bersifat selektif untuk mencegah pertumbuhan bakteri gram positif,

beberapa gram negatif lainnya, dan bakteri *coliform* sehingga diharapkan bakteri yang tumbuh hanya *Salmonella* dan *Shigella*. *Salmonella typhi* dapat menghasilkan H<sub>2</sub>S sehingga terbentuk warna hitam pada tengah koloni.<sup>25</sup>

Uji SIM digunakan untuk menilai kemampuan bakteri dalam memproduksi sulfur dan kemampuan pembentukan indol. Selain itu, medium ini dapat digunakan juga untuk menilai motilitas bakteri. *Salmonella typhi* memiliki flagela, sehingga uji motilitas pada medium positif yang ditandai dengan penyebaran koloni dalam medium. Bakteri ini juga dapat memproduksi endoenzim tiosulfat reduktase, sehingga dihasilkan gas H<sub>2</sub>S yang terlihat berwarna hitam. Namun, *Salmonella typhi* tidak memiliki enzim triptofanase, sehingga asam amino triptofan yang terdapat pada medium tidak digunakan dan tidak terbentuk cincin berwarna merah pada medium sebagai indikator dihasilkannya indol.<sup>25</sup>

Uji SC digunakan untuk membedakan bakteri yang dapat menggunakan sitrat sebagai sumber karbon dan energi. Beberapa bakteri memiliki enzim sitrat permease yang memungkinkan bakteri untuk memecah sitrat, sehingga pH medium akan berubah dan mengubah indikator warna hijau menjadi biru. *Salmonella typhi* tidak memiliki enzim sitrat permease, sehingga hasil uji SC negatif. Uji ini digunakan untuk membedakan *Salmonella typhi* dengan bakteri golongan *Salmonella* sp. lainnya.<sup>25</sup>

Uji biokimia TSIA digunakan untuk membedakan antara bakteri golongan *Enterobacteriaceae* dan golongan *Enterobacteriaceae* dengan golongan lainnya. Uji ini untuk melihat kemampuan bakteri dalam memfermentasikan glukosa pada dasar dan laktosa dan sukrosa pada permukaan medium. Medium mengandung logam-logam yang dapat dihidrolisis oleh bakteri sehingga terbentuk sulfid yang berwarna hitam. *Salmonella typhi* dapat memfermentasi glukosa, namun tidak dapat memfermentasikan laktosa, sehingga disebut *non lactose fermenter*

*Enterobacteriaceae. Salmonella typhi* dapat menghidrolisis logam pada medium sehingga terbentuk sulfid yang ditandai terbentuknya kompleks berwarna hitam, tetapi tidak menghasilkan gas.<sup>25</sup>

### Uji Aktivitas Antibakteri

Metode pengujian aktivitas antibakteri yang digunakan adalah metode uji sumur difusi. Pengujian terdiri dari delapan kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol positif, kelompok kontrol negatif, dan enam kelompok larutan uji dengan konsentrasi yang berbeda. Masing-masing kelompok dilakukan pengulangan sebanyak empat kali. Hasil pengujian (tabel 1.4) menunjukkan bahwa pada kelompok kontrol positif terbentuk zona hambat dengan rata-rata ukuran yaitu 32,36 mm. Sedangkan pada kelompok kontrol negatif dan semua kelompok larutan uji tidak terbentuk zona hambat.

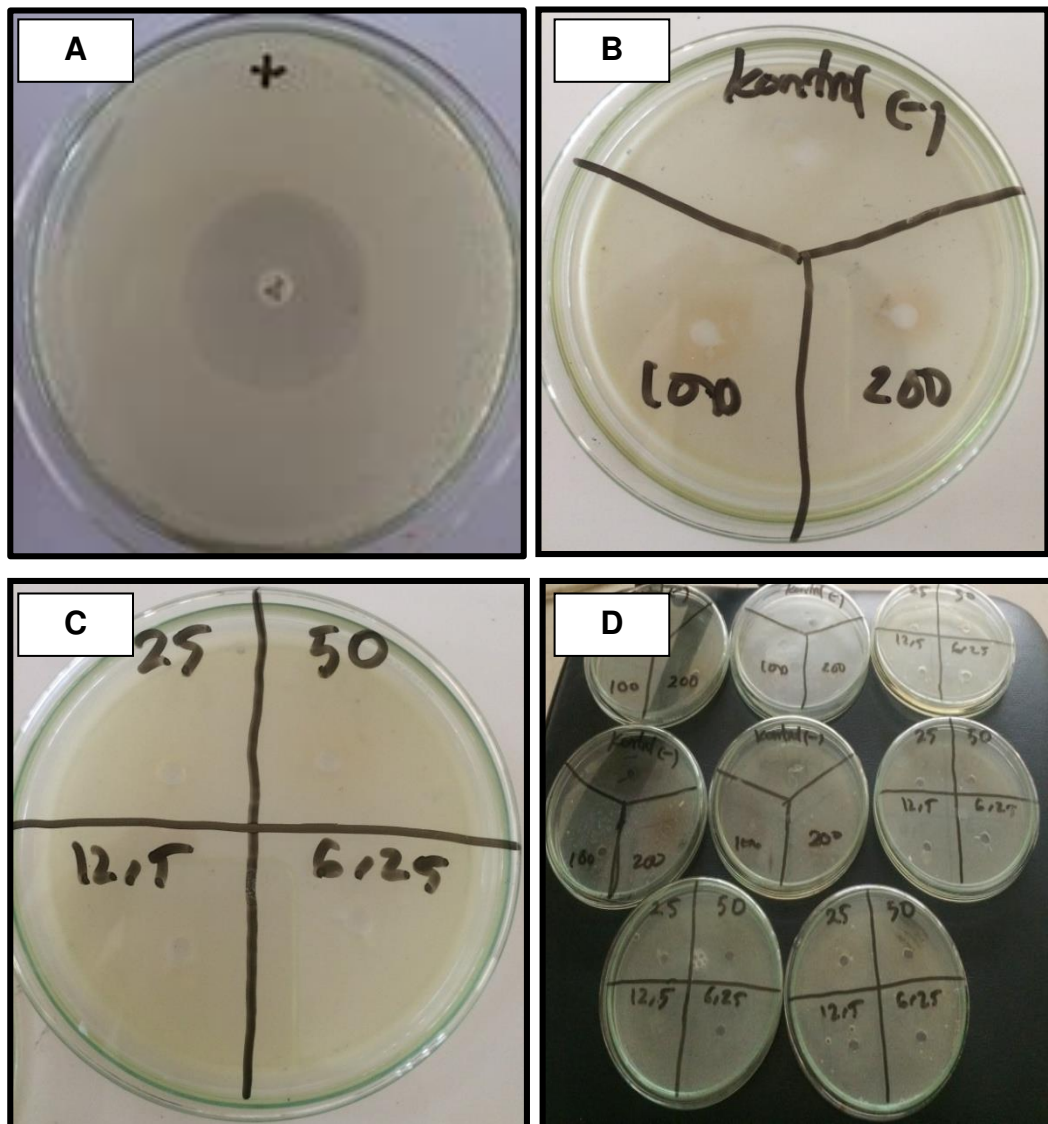
Tabel 1.4 Hasil Pengujian Aktivitas Antibakteri Delapan Kelompok Perlakuan terhadap *Salmonella typhi*

No	Kelompok	Hasil Pengulangan ke- (mm)				Rata-rata
		I	II	III	IV	
1	Kontrol positif*	32,14	32,34	32,63	32,32	32,36
2	Kontrol negatif**	0	0	0	0	0
3	LU 1***	0	0	0	0	0
4	LU 2	0	0	0	0	0
5	LU 3	0	0	0	0	0
6	LU 4	0	0	0	0	0
7	LU 5	0	0	0	0	0
8	LU 6	0	0	0	0	0

Keterangan: \*kontrol positif yang digunakan yaitu siprofloksasin.

\*\*kontrol negatif yang digunakan yaitu akuades.

\*\*\*larutan uji adalah kombinasi infusa umbi bawang dayak dan infusa daun mangga bacang.



Gambar 1.2 Hasil Uji Aktivitas Antibakteri: A) Kontrol Positif; B) Kontrol Negatif, Larutan Uji 200%, dan Larutan Uji 100%; C) Larutan Uji 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%; D) Total Pengulangan Sebanyak empat kali

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah siprofloksasin. Diketahui bahwa ukuran rata-rata zona hambat pada kontrol positif adalah 32,36 mm, yang kemudian diinterpretasikan berdasarkan tabel interpretasi zona hambat dan diperoleh hasil bahwa antibiotik yang digunakan sensitif terhadap *Salmonella typhi*.<sup>16</sup> Nelwan (2012) mengatakan bahwa antibiotik golongan flurokuinolon merupakan pilihan yang efektif terhadap terapi

demam tifoid. Studi meta-analisis pada tahun 2009 menyatakan bahwa, pemberian fluorokuinolon lebih baik dibandingkan dengan kloramfenikol untuk mencegah kekambuhan.<sup>26</sup>

Kontrol negatif merupakan akuades, sehingga pada pengujian aktivitas antibakteri tidak terbentuk zona hambat karena tidak mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri. Hasil negatif atau resisten pada kontrol negatif menunjukkan tidak adanya kontaminasi pada saat pengujian aktivitas antibakteri.

Larutan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah kombinasi infusa umbi bawang dayak dan infusa daun mangga bacang. Dari hasil skrining fitokimia, didapatkan bahwa kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat di dalam larutan uji adalah fenol, flavonoid, saponin, tanin, dan kuinon yang memiliki potensi sebagai antibakteri. Namun, uji aktivitas antibakteri yang dilakukan terhadap *Salmonella typhi* pada uji sumur difusi tidak menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk. Sehingga disimpulkan bahwa larutan uji tidak memiliki aktivitas antibakteri atau resisten. Kaneria, M. *et al* (2009) menyatakan bahwa terdapat dua faktor utama yang memengaruhi kemampuan aktivitas antibakteri suatu zat, yaitu karakteristik ekstrak yang digunakan dan karakteristik bakteri uji.<sup>27</sup>

Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada penelitian ini dilakukan secara kualitatif, yaitu dinyatakan positif apabila terdapat senyawa metabolit dan negatif jika tidak ditemukan. Hasil ini dapat dipengaruhi oleh jumlah kandungan senyawa metabolit sekunder pada setiap tanaman dan jenis pelarut yang digunakan.<sup>28</sup> Kandungan metabolit sekunder pada tanaman berbeda bergantung pada jenis dan bagian tanaman yang digunakan, serta kondisi lingkungan tempat tanaman tumbuh.<sup>29</sup> Penelitian kuantitatif yang dilakukan oleh Kusuma, I. W. *et al* menunjukkan terdapat perbedaan jumlah kandungan senyawa metabolit sekunder pada berbagai jenis tanaman.<sup>30</sup> Penelitian berbeda yang dilakukan pada sepuluh jenis



tanaman herbal dari berbagai daerah di Nigeria menunjukkan perbedaan aktivitas antibakteri yang signifikan dikarenakan perbedaan kandungan metabolit sekunder yang ada.<sup>31</sup>

Proses ekstraksi senyawa metabolit sekunder juga dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan. Sifat polaritas pelarut sangat menentukan ekstraksi senyawa metabolit sekunder tanaman.<sup>28</sup> Senyawa metabolit sekunder yang banyak dijumpai pada tanaman herbal yang berpotensi sebagai antibakteri adalah alkaloid, flavonoid, fenol, tanin, saponin, dan steroid-triterpenoid. Penelitian yang dilakukan oleh Saravanakumar, A. *et al* (2015) menunjukkan bahwa keenam metabolit sekunder tersebut lebih banyak diperoleh apabila pelarut yang digunakan merupakan pelarut organik yang bersifat semipolar, seperti metanol, etanol, n-heksan, etil asetat, dan kloroform. Sedangkan air memberikan hasil dengan kadar metabolit sekunder yang paling rendah, karena air sebagai pelarut memiliki polaritas yang sangat tinggi.<sup>32</sup> Penelitian ini didukung oleh studi berbeda yang dilakukan oleh Septiana, A. T. dan Asrani, A. (2012) yang menunjukkan bahwa ekstraksi senyawa fenol dengan menggunakan pelarut air memiliki kadar yang sangat rendah bila dibandingkan dengan pelarut semi polar lain yang digunakan (n-heksan, metanol, etanol, dan etil asetat).<sup>29</sup> Penelitian aktivitas antibakteri yang dilakukan oleh Ullah, N. *et al* (2014) dengan menggunakan berbagai pelarut dalam ekstraksi tanaman *Ballota nigra* terhadap *Salmonella typhi* menunjukkan hasil negatif hanya ditemukan pada pelarut air.<sup>33</sup>

Morfologi dan karakteristik bakteri uji sangat berpengaruh terhadap pengujian aktivitas antibakteri. Dalam penelitian yang sama, Kaneria, M. *et al* (2009) menyebutkan bahwa perbedaan struktur membran sel pada bakteri gram positif dan gram negatif berperan penting dalam studi antibakteri.<sup>27</sup> Penelitian ini didukung oleh studi yang dilakukan oleh Bandeira, M. F. *et al* (2006) yang menyatakan bahwa bakteri gram negatif memiliki dua membran sel yang tersusun atas lipid bilayer, sehingga akan

menghambat senyawa polar masuk ke dalam sel.<sup>34</sup> *Salmonella typhi* merupakan bakteri gram negatif yang memiliki membran luar dan membran dalam. Hal inilah yang memungkinkan senyawa metabolit sekunder yang ada sukar untuk menembus struktur sel *Salmonella typhi*.<sup>35</sup>

## KESIMPULAN

Kombinasi infusa umbi bawang dayak dan infusa daun mangga bacang tidak memiliki efek antibakteri terhadap *Salmonella typhi* secara in vitro.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Moehario L. H. Keragaman Genetik *Salmonella typhi* Penyebab Demam Tifoid Menggunakan Pulsed-Field Gel Elektroforesis. Jakarta: Universitas Indonesia 2001.
2. Widodo D. Demam Tifoid, Dalam: Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam Jilid I, Edisi VI. Jakarta: Buku Kedokteran EGC. 2014.
3. Bernard Rowe, Linda R. Ward, & E. John Threlfall. Multidrug-Resistant *Salmonella typhi*: A Worldwide Epidemic. London: WHO, 2014.
4. Levine M. M., Sztein M. B., & Pasetti M. F. The Immunological Basis for Immunization Series, Module 20: *Salmonella enteric* Serovar Typhi (typhoid) Vaccines. Switzerland: WHO, 2010.
5. Mandhulika U., Harish B.N., & Parija S. C. Current Pattern in Antimicrobial Susceptibility of *Salmonella typhi* Isolates in Pondicherry. India: Indian J Med Res, 2004, pp: 111-14.
6. Sirinavin S. & Garner P. Antibiotic for Treating *Salmonella* Gut Infections (Review). John Wiley & Sons, Ltd, 2009.
7. B.O.T. Ifesan, C. Hamtasin, W. Mahabusarakam, & S.P. Voravuthikunchai. Inhibitory Effect of *Eleutherine Americana* Merr. Extract on *Staphylococcus aureus* Isolated from Food. Journal of Food Science, 2009; 74 (1).
8. Chansukh, K., Charoensup, R., Palanuvej, C., & Ruangrunsi, N. Antimicrobial Activities of Selected Thai Medicinal Plants Bearing

- Quinonoids. Research Journal of Pharmaceutical, Biological, & Chemical Science, 2014; 5 (2), p: 425.
9. Limsuwan, S. & Voravuthikunchai, S. P. *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schltr., *Eleutherine Americana* Merr. & *Rhodymyrtus tomentosa* (Aiton) Hassk. as Antibiofilm Producing & Antiquorum Sensing in *Streptococcus pyogenes*. Thailand: Prince of Songkla University, 2008.
  10. Kuntorini, E. M. & Nugroho, L. H. Structural Development and Bioactive Content of Red Bulb Plant (*Eleutherine americana*); a Traditional Medicines for Local Kalimantan People. *Biodiversitas*, 2010; 11 (2), pp: 102-06.
  11. Pohan, A. P. N., Purwaningsih, E. H., & Dwijayanti, A. Efek Kelasi Ekstrak Etanol Daun *Mangifera foetida* pada Feritin Serum Penderita Talasemia di RS Cipto Mangunkusumo, Tahun 2012. Jakarta: Universitas Indonesia, Dalam: *eJKI*, 2013; 1 (1).
  12. Rijayanti, R. P. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. Pontianak: Universitas Tanjungpura, 2014.
  13. Staf Pengajar Departemen Mikrobiologi Klinik FKUI-RSCM. Penuntun Praktikum Mikrobiologi Kedokteran. Jakarta: Badan Penerbit FKUI, 2012.
  14. Ryan, K. J. & Ray, C. G., Editor. *Sherris Medical Microbiology* 4th Edition. McGraw Hill, 2004.
  15. Simorangkir, M., Sitepu, M., & Simanjuntak, P. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Ranti Hitam (*Solanum blumei* Nees ex Blume) terhadap *Salmonella typhimurium*. Medan: Universitas Negeri Medan, 2013.
  16. Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-Second Informational Supplement. CLSI document M100-S22E [ISBN 1-56238-786-3]. Clinical & Laboratory Standards Institute. 940 West Valley

- Road. Suite 1400. Wyne. Pennsylvania 190877-1898 USA. 2012; 32(3), p: 77.
17. Departemen Kesehatan RI. Farmakope Herbal Indonesia Edisi Pertama. Jakarta: Menteri Kesehatan, 2009.
  18. Aini, K., Lukiaty, B. dan Balqis. Skripsi: Skrining Fitokimia dan Penentuan Aktivitas Antioksidan serta Kandungan Total Fenol Ekstrak Buah Labu Siam (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.). Malang: Universitas Negeri Malang, 2014.
  19. Fauzia dan Larasati, A. Uji Efek Ekstrak Air dari Daun Avokad (*Persea gratissima*) terhadap *Streptococcus Mutans* dari Saliva dengan Kromatografi Lapisan Tipis (TLC) dan Konsentrasi Hambat Minimum (MIC). Jakarta: Majalah Kedokteran Nusantara, 2008; Vol. 41, No. 3.
  20. Marlinda, M. et al. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). Manado: Universitas Sam Ratulangi, 2012.
  21. Djamil, R. dan Anelia, T. Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol beberapa Spesies Papilionaceae. Jakarta: Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, 2009; Vol. 7, No. 2, pp: 65-71.
  22. Widodo, N. Skripsi: Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid yang Terkandung dalam Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). Semarang: Universitas Negeri Semarang, 2007.
  23. Nurjanah et al. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Solen spp*). Semarang: Universitas Diponegoro, 2011; Vol. 16, No.3, pp: 119-24.
  24. Brooks, G. F., Butel, J. S., dan Morse, S. A. Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23. Jakarta: Buku Kedokteran EGC, 2008.
  25. Sugito. Panduan Praktikum Bakteriologi. Pontianak: Politeknik Kesehatan Departemen Kesehatan Pontianak, 2008.
  26. Nelwan, RHH. Tatalaksana Terkini Demam Tifoid. Jakarta: Continuing Medical Education, 2012; Vol. 39, No. 4, pg: 249.

27. Kaneria, M. et al. Determination of Antibacterial and Antioxidant Potential of Some Medical Plants from Saurashtra Region, India. India: Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2009; Vol. 71, No.4, pp: 406-12.
28. Rais, I. R. Andrographolide Extraction from *Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees Using Soxhlet Extractor. Yogyakarta: Pharmacia, 2014; Vol. 4, No. 1, pp: 85-92.
29. Septiana, A. T. dan Asnani, A. Kajian Sifat Fisikokimia Ekstrak Rumput Laut Coklat *Sargassum duplicatum* Menggunakan Berbagai Pelarut dan Metode Ekstraksi. Jawa Tengah: Agrotek, 2012; Vol. 6, No.1.
30. Kusuma, I. W. et al. Biological Activity and Phytochemical Analysis of Three Indonesian Medicinal Plants, *Murraya koenigii*, *Syzygium polyanthum* and *Zingiber purpurea*. Korea: Journal of Acupuncture and Meridian Studies, 2011; Vol. 4, No. 1, pp: 75-9.
31. Aladesanmi, A.J. et al. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Some Nigerian Medical Plants. Afrika: J. Trad. CAM, 2007; Vol. 4, No. 2, pp: 173-84.
32. Sravanakumar, A. et al. Evaluation of Antibacterial Activity, Phenol and Flavonoid Contents of *Thespesia populnea* Flower Extracts. Pakistan: Journal of Pharmaceutical Sciences, 2009; Vol. 22, No. 3, pp: 282-6.
33. Ullah, N. et al. In Vitro Antimicrobial and Antiprotozoal Activities, Phytochemical Screening and Heavy Metals Toxicity of Different Parts of *Ballota nigra*. Pakistan: BioMed Research International, 2014.
34. Bandeira, M. F. et al. dalam: Kaneria, M. et al. Determination of Antibacterial and Antioxidant Potential of Some Medical Plants from Saurashtra Region, India. India: Indian Journal of Pharmaceutical Sciences, 2009; Vol. 71, No.4, pp: 406-12.
35. Siahaan, S. H. L. Uji Aktivitas Antibakteri Biji Buah Langsung (*Lansium domesticum* Cor.) terhadap *Salmonella typhi*. Pontianak: Universitas Tanjungpura, 2013.

## Lampiran Surat Lolos Kaji Etik



KEMENTERIAN PENDIDIKAN DAN KEBUDAYAAN  
UNIVERSITAS TANJUNGPURA  
FAKULTAS KEDOKTERAN

Jalan Prof. Dr. H. Hadari Nawawi Pontianak 78124  
Telp (0561) 765342, 583865, 732500 Fax (0561) 765342, 583865, 732500 Kotak Pos 1049  
E-mail : kedokteran@untan.ac.id website : <http://www.kedokteran.untan.ac.id>

**KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK ( ETHICAL – CLEARANCE)**

No : 1298 /UN22.9/DT/2015

Divisi Kaji Etik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dalam upaya melindungi kesejahteraan hewan coba subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol penelitian berjudul:

*Ethical Clearance Division of the Faculty of Medicine University of Tanjungpura, with regards of the animal welfare in medical and health research, has carefully reviewed the proposal entitled:*

**Efek Antibakteri Kombinasi Infusa Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine Americana* (L.) Merr) dan Infusa Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Salmonella typhi* secara In Vitro**

Peneliti utama (*Principal Researcher*) : Aprindo Donatus

Nama institusi (*Institution*) : Program Studi Pendidikan Dokter  
Fakultas Kedokteran Untan

dan telah menyetujui protokol penelitian tersebut di atas.  
*and approved the mentioned proposal.*

Pontianak, 23 Maret 2015  
Ketua (*Chairman*),

dr. Heru Fajar Trianto, M.Biomed  
NIP. 19841013 200912 1 005

\*Keterangan Lolos Etik (*Ethical-clearance*) berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan